Piccolo® AmLyte 13

Para uso diagnóstico in vitro y uso profesional solamente
Servicio y asistencia técnica al cliente: 800-822-2947
Para solicitar el servicio de asistencia al cliente, los clientes residentes fuera de EE.UU. deben ponerse en contacto con su representante local de Abaxis

Julio de 2014
N.º de referencia: 400-7205 Rev: A

1. Indicaciones

El Piccolo® AmLyte 13, usado con el analizador químico Xpress® de Piccolo, está diseñado para ser usado para la determinación cuantitativa *in-vitro* de alanina aminotransferasa (ALT), albúmina, amilasa, aspartato aminotransferasa (AST), calcio, proteína c reactiva (CRP), creatina quinasa, creatinina, glucosa, potasio, sodio, bilirrubina total y nitrógeno ureico (BUN) en sangre entera tratada con heparina-litio, plasma tratado con heparina-litio o suero, en un ámbito de laboratorio clínico o una ubicación point-of-care. El método Abaxis CRP no está ideado para la medición de CRP de alta sensibilidad.

2. Resumen y explicación de las pruebas

El Piccolo AmLyte 13 y el analizador químico Xpress constituyen un sistema diagnóstico *in vitro* que ayuda al médico en el diagnóstico de las siguientes enfermedades:

Alanina aminotransferasa (ALT):	Enfermedades hepáticas, incluidas hepatitis viral y cirrosis.
Albúmina:	Enfermedades hepáticas y renales.
Amilasa:	Pancreatitis.
Aspartato aminotransferasa (AST):	Hepatopatías, incluidas hepatitis e ictericia viral, shock.
Calcio:	Enfermedades paratiroideas, óseas y renales crónicas; tetania.
Proteína C reactiva (CRP):	Infección, daño tisular y trastornos inflamatorios.
Creatina quinasa:	Infarto de miocardio, distrofia muscular progresiva, dermatomiositis, rabdomiolisis debida a ingestión de fármacos, hiperosmolalidad, enfermedad autoinmune, delirium tremens, convulsiones, síndrome de Crush, hipotiroidismo, cirugía, ejercicio físico severo, inyección intramuscular, inactividad física, reducción en la masa muscular.
Creatinina:	Enfermedad renal y control de diálisis renal.
Glucosa:	Alteraciones del metabolismo de carbohidratos, incluida la diabetes mellitus e hipoglucemia del adulto y juvenil.
Potasio:	Enfermedad glomerular o tubular renal, insuficiencia adrenocortical, cetoacidosis diabética, tratamiento excesivo con potasio endovenoso, sepsis, panhipopituitarismo, hemólisis *in vitro*, hiperaldosteronismo, malnutrición, hiperinsulinismo, alcalosis metabólica y pérdida gastrointestinal.
Sodio:	Deshidratación, diabetes insípida, pérdida de líquidos gastrointestinales hipotónicos, intoxicación por sal, disminución selectiva de la sensación de sed, pérdidas cutáneas, quemaduras, sudoración, hiperaldosteronismo, alteraciones del SNC, hiponatremia por dilución, por depleción y por delirio, y síndrome de secreción inadecuada de HAD.
Bilirrubina total:	Trastornos hepáticos, entre ellos hepatitis y obstrucción de la vesícula biliar; ictericia.

Al igual que con cualquier procedimiento diagnóstico de prueba, hay que considerar todos los procedimientos de prueba restantes, incluido el estado clínico del paciente, antes del diagnóstico final.

3. Principio del procedimiento

Alanina aminotransferasa (ALT)
La alanina aminotransferasa (ALT) ha sido medida mediante tres métodos. Dos de estos métodos, la técnica de acoplamiento colorimétrico por dinitrofenilhidracina[1,2] y la prueba enzimática fluorescente, se usan muy raramente[3]. La técnica más común para la determinación de las concentraciones de ALT en suero es un método enzimático basado en el trabajo de Wróblewski y LaDue[4]. La Federación Internacional de Química Clínica (IFCC) ha propuesto como método recomendado un procedimiento Wróblewski y LaDue modificado[5].

El método desarrollado para ser usado con los analizadores de Piccolo es una modificación del procedimiento recomendado por la IFCC. En esta reacción, la ALT cataliza la transferencia de un grupo amino de la L-alanina al α-cetoglutarato para formar L-glutamato y piruvato. La lactato deshidrogenasa cataliza la conversión de piruvato a lactato. Al mismo tiempo, la NADH se oxida a NAD^+, como se observa en el esquema de la siguiente reacción.

$$\text{L-Alanina} + \alpha\text{-cetoglutarato} \xrightarrow{\text{ALT}} \text{L-Glutamato} + \text{piruvato}$$

$$\text{Piruvato} + \text{NADH} + H^+ \xrightarrow{\text{LDH}} \text{Lactato} + NAD^+$$

El índice de cambio de la diferencia de absorbancia entre 340 nm y 405 nm se debe a la conversión de NADH en NAD^+ y es directamente proporcional a la cantidad de ALT en la muestra.

Albúmina (ALB)
Los primeros métodos usados para medir la albúmina incluyen técnicas de fraccionamiento[6,7,8] y el contenido en triptófano de globulinas[9,10]. Estos métodos son de realización complicada y carecen de alta especificidad. Hay dos técnicas inmunoquímicas consideradas métodos de referencia, pero son caras y llevan mucho tiempo[11]. Los métodos usados más frecuentemente para medir la albúmina consisten en técnicas de fijación de tinte. El verde de bromocresol (BCG) es el tinte más comúnmente usado entre los métodos de fijación de tinte pero puede sobreestimar la concentración de albúmina, especialmente en el extremo inferior del intervalo normal[12]. La púrpura de bromocresol (BCP) es el más específico de los tintes utilizados[13,14].

Cuando se liga con la albúmina, la púrpura de bromocresol (BCP) cambia de color, de amarillo a azul. La absorbancia máxima cambia con el cambio de color.

$$\text{BCP} + \text{albúmina} \xrightarrow[\text{pH ácido}]{\text{Surfactantes}} \text{Complejo BCP-albúmina}$$

La albúmina ligada es proporcional a la concentración de albúmina en la muestra. Es una reacción de punto final que se mide en términos de la diferencia de absorbancia entre 600 nm y 550 nm.

Amilasa (AMY)
Se han desarrollado alrededor de 200 pruebas diferentes para medir la amilasa. La mayoría de los procedimientos utilizan una solución de polisacáridos tamponada, pero emplean distintas técnicas de detección. Los métodos viscosimétricos carecen de precisión y exactitud[15], mientras que los métodos turbidimétricos y yodométricos son difíciles de normalizar[16,17]. Los métodos sacarogénicos y cromolíticos se utilizan comúnmente. La técnica "clásica" para medir la amilasa es un método sacarogénico[18], pero es difícil y lleva mucho tiempo[19]. Recientemente se han desarrollado métodos cromolíticos que utilizan *p*-nitrofenil-glucósidos como sustratos[20]. Estos ensayos tienen mayor especificidad para la amilasa pancreática que para la amilasa salival y se monitorean fácilmente[20].

El el método Piccolo, el sustrato 2-cloro-*p*-nitrofenil-α-D-maltotriosida (CNPG3) reacciona con una α-amilasa en la muestra del paciente, liberando 2-cloro-*p*-nitrofenol (CNP). La liberación de CNP crea un cambio de color.

$$\text{CNPG3} \xrightarrow{\alpha\text{-Amilasa}} \text{CNP} + \text{D-Maltotriosida}$$

La reacción se mide bicromáticamente a 405 nm y 500 nm. El cambio de absorbancia debido a la formación de CNP es directamente proporcional a la actividad de la α-amilasa en la muestra.

Aspartato aminotransferasa (AST)
La prueba de la aspartato aminotransferasa (AST) se basa en el método de velocidad de Karmen[21], de acuerdo con la modificación de Bergmeyer[22]. El método de referencia actual de la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC) utiliza la técnica de Karmen/Bergmeyer de acoplamiento de malato deshidrogenasa (MDH) y nicotinamida dinucleótido reducida (NADH) en la detección de AST en suero[22,23]. Se agrega lactato deshidrogenasa (LDH) a la reacción para reducir la interferencia causada por el piruvato endógeno.

La AST cataliza la reacción de L-aspartato y α-cetoglutarato en oxaloacetato y L-glutamato. El oxaloacetato se convierte en malato y NADH se oxida a NAD^+ por el catalizador MDH.

$$\text{L-aspartato} + \alpha\text{-cetoglutarato} \xrightarrow{\text{AST}} \text{Oxaloacetato} + \text{L-glutamato}$$

$$\text{Oxaloacetato} + \text{NADH} \xrightarrow{\text{MDH}} \text{Malato} + NAD^+$$

El cambio en el índice de absorbancia a 340 nm/405 nm debido a la conversión de NADH a NAD^+ es directamente proporcional a la cantidad de AST contenida en la muestra.

Calcio (CA)
Los primeros métodos que se usaron para analizar el calcio consistían en precipitar el calcio con un exceso de aniones[24,25,26]. Los métodos de precipitación son trabajosos y con frecuencia imprecisos. El método de referencia para el calcio es la espectroscopia de absorción atómica; sin embargo, este método no es apropiado para el uso rutinario[27]. Los métodos espectrofotométricos que usan *o*-cresolftaleína complexona o arsenazo III como indicadores metalocrómicos son los más comúnmente utilizados[28,29,30]. El arsenazo III tiene alta afinidad por el calcio y no depende de la temperatura como la CPC.

El calcio en la muestra del paciente se liga con el arsenazo III para formar un complejo calcio-tinte.

$$Ca^{2+} + \text{arsenazo III} \longrightarrow \text{Complejo } Ca^{2+}\text{-arsenazo III}$$

Se monitorea la reacción de punto funal a 405 nm, 467 nm y 600 nm. La cantidad de calcio total en la muestra es proporcional a la absorbancia.

Proteína C reactiva (CRP)
Las pruebas originales para cuantificar la CRP se realizaron principalmente con fines de investigación y basándose en la metodología ELISA.[31] Más recientemente, se han utilizado métodos inmunonefelométricos mejorados con látex.[32] No obstante; esto requiere un nefelómetro para medir la dispersión de la luz. Se han diseñado varias pruebas inmunoturbidimétricas e inmunoluminométricas automatizadas que se pueden llevar a cabo con analizadores químicos clínicos convencionales.[33]

El método utilizado por Abaxis es un inmunoensayo turbidimétrico de aglutinación con látex. La muestra se mezcla con una suspensión de anticuerpos monoclonales de CRP antihumanos de ratón fijada al látex. La CRP en la muestra se une a las partículas de látex-anticuerpo y se aglutina creando turbidez. La dispersión de la luz de la turbidez se utiliza como medida de CRP. La turbidez se mide como un cambio en la absorbancia a 630 nm. Este cambio en la absorbancia es directamente proporcional a la actividad de la CRP en la muestra.

$$\text{Partículas de látex anti-CRP} + \text{CRP} \longrightarrow \text{Partículas de látex anti-CRP-CRP aglutinadas}$$

Creatina quinasa (CK)
La creatina quinasa cataliza la fosforilación reversible de la creatina por la adenosina trifosfato (ATP). La reacción de fosforilación se favorece por las condiciones alcalinas (óptimo a pH 9,0) y la reacción de desfosforilación es favorecida por las condiciones ácidas (óptimo a pH 6,5 a 37 ºC). Los primeros métodos de medición de la CK se basaron en la "reacción anterógrada" con creatina fosfato y adenosina difosfato (ADP) como los productos.[34,35,36] La sensibilidad de estas pruebas se demostró que era baja debido a problemas con interferencias. El procedimiento de elección utiliza la "reacción inversa" juntamente con una reacción que produce NADPH, que se relaciona de manera directa con los niveles de CK.[37,38,39]

El procedimiento de medición CK usado por Abaxis es una versión modificada del método de la Federación Internacional de Química Clínica (International Federation of Clinical Chemistry, IFCC).[40] Las modificaciones principales son la fracción de volumen de la muestra, el amortiguador y la temperatura. Se agregó n-acetilo cisteína (NAC) para reactivar la CK[41]. Se usó magnesio como factor para la CK y la hexoquinasa. Se agregó EDTA como estabilizador NAC y para la eliminación de varios cationes, como el calcio y el hierro, que inhiben a la CK. También se agregaron P^1, P^5-di (adenosina-5') penta fosfato y

adenosina monofosfato (AMP) para inhibir la adenilato quinasa, otra enzima de músculo esquelético y eritrocitos que reacciona con los sustratos utilizados para medir la CK.

La creatina quinasa cataliza la formación de creatina y ATP a partir de creatina fosfato y ADP a pH 6,7. Con hexoquinasa como catalizador, ATP reacciona con D-glucosa para formar ADP y d-glucosa-6-fosfato (G-6-P), que reacciona con nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP) en presencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PDH) para producir G-6-P y NADPH.

$$\text{Creatina fosfato + ADP} \xrightarrow[Mg^{2+}]{CK} \text{Creatina + ATP}$$

$$\text{ATP + D-glucosa} \xrightarrow{\text{Hexoquinasa}} \text{ADP + G-6-P}$$

$$\text{G-6-P + NADP} \xrightarrow{\text{G-6-PDH}} \text{6-fosfogluconato + NADPH + } H^+$$

La formación de NADPH se mide como cambio en la absorbancia a 340 nm en relación con 405 nm. Este cambio en la absorbancia es directamente proporcional a la actividad de la creatina quinasa en la muestra.

Creatinina (CRE)
El método Jaffe, presentado en 1886, sigue siendo el método usado con mayor frecuencia para la determinación de los niveles de creatinina en la sangre. El método de referencia actual combina el uso de tierra de fuller (floridina) con la técnica de Jaffe para aumentar la especificidad de la reacción.[42,43] Se desarrollaron métodos enzimáticos que son más específicos para la creatinina que las distintas modificaciones de la técnica de Jaffe.[44,45,46] Los métodos que utilizan la enzima creatinina amidohidrolasa eliminan los problemas de la interferencia del ión amoníaco que se encuentra en las técnicas que usan la creatinina iminohidrolasa.[47]

$$\text{Creatinina + } H_2O \xrightarrow{\text{Creatina amidinohidrolasa}} \text{Creatina}$$

$$\text{Creatina + } H_2O \xrightarrow{\text{Creatina amidinohidrolasa}} \text{Sarcosina + Urea}$$

$$\text{Sarcosina + } H_2O + O_2 \xrightarrow{\text{Sarcosina oxidasa}} \text{Glicina + formaldehído + } H_2O_2$$

$$H_2O_2 + \text{TBHBA + 4-AAP} \xrightarrow{\text{Peroxidasa}} \text{Colorante rojo de quinoneimina + } H_2O$$

Se utilizan dos cubetas para determinar la concentración de creatinina en la muestra. La creatina endógena se mide en la cubeta de referencia, que es restada de la creatina endógena combinada y la creatina formada a partir de las reacciones enzimáticas en la cubeta de prueba. Una vez eliminada la creatina endógena de los cálculos, la concentración de creatinina es proporcional a la intensidad del color rojo producido. El criterio de valoración del fin de la reacción se mide como la diferencia en la absorbancia entre 550 nm y 600 nm.

eGFR (calculada)
La creatinina sérica se mide de forma rutinaria como indicador de la función renal. Debido a que la edad, el sexo y la raza influyen en las concentraciones de creatinina, no es posible detectar la nefropatía crónica (NC) tan solo mediante la creatinina sérica. Así pues, el National Kidney Disease Education Program (Programa Nacional de Educación sobre la Nefropatía) recomienda encarecidamente que los laboratorios informen de forma rutinaria de la tasa de filtración glomerular estimada (eGFR) cuando se mida la creatinina sérica en los pacientes mayores de 18 años. La comunicación de forma rutinaria de la eGFR junto con todas las determinaciones de creatinina sérica permite a los laboratorios ayudar a identificar a los individuos con función renal reducida y contribuye a facilitar la detección de la NC. Los valores calculados de la eGFR <60 mL/min generalmente están asociados con un mayor riesgo de resultados adversos de la NC.

Piccolo calcula la eGFR usando la edad, el sexo y la raza del paciente. El método de Piccolo para la creatinina es comparable con el método de referencia para la creatinina IDMS, de forma que se puede utilizar la siguiente forma de la ecuación MDRD para el cálculo de la eGFR.

GFR (mL/min/1,73 m^2) = 175 x $(S_{cr})^{-1.154}$ x (edad)$^{-0.203}$ x (0,742 si es mujer) x (1,212 si es afroamericano)

Glucosa (GLU)
Las primeras mediciones de la concentración de glucosa fueron realizadas mediante métodos de reducción del cobre (como Folin-Wu[48] y Somogyi-Nelson[49,50]). La falta de especificidad en las técnicas de reducción del cobre llevó al desarrollo de procedimientos cuantitativos con las enzimas hexoquinasa y glucosa oxidasa. La prueba de la glucosa incorporada en el AmLyte 13 es una versión modificada del método de la hexoquinasa, que se propuso como la base para el método de referencia de la glucosa.[51]

La reacción de glucosa con adenosina trifosfato (ATP), catalizada por hexoquinasa (HK), resulta en glucosa-6-fosfato (G-6-P) y adenosina difosfato (ADP). La glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PDH) cataliza la reacción de G-6-P en 6-fosfogluconato y la reducción de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD^+) a NADH.

$$\text{Glucosa} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{Hexoquinasa}} \text{G-6-P} + \text{ADP}$$

$$\text{G-6-P} + \text{NAD}^+ \xrightarrow{\text{G-6-PDH}} \text{6-fosfogluconato} + \text{NADH} + \text{H}^+$$

Potasio (K^+)
Se han desarrollado métodos espectrofotométricos que permiten la medición de la concentración del potasio con instrumentación estándar de química clínica. El método enzimático Abaxis se basa en la activación de la piruvato quinasa con potasio, y muestra una linealidad excelente y una susceptibilidad despreciable a las sustancias endógenas.[52,53,54] La interferencia de los iones sodio y amonio se reduce al mínimo al añadir Kryptofix y glutamina sintetasa, respectivamente.[52]

En la reacción de acoplamiento de enzimas, la piruvatoquinasa (PK) desfosforila al fosfoenolpiruvato (PEP) para formar piruvato. La lactatodeshidrogenasa (LDH) cataliza la conversión de piruvato a lactato. Al mismo tiempo, NADH se oxida a NAD^+. El rango de cambio en la diferencia de absorbancia entre 340 y 405 nm se debe a la conversión de NADH en NAD^+ y es directamente proporcional a la cantidad de potasio en la muestra.

$$\text{ADP} + \text{PEP} \xrightarrow{K^+,\ \text{PK}} \text{Piruvato} + \text{ATP}$$

$$\text{Piruvato} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightarrow{\text{LDH}} \text{Lactato} + \text{NAD}^+$$

Sodio (NA^+)
Se han desarrollado métodos colorimétricos y enzimáticos que permiten la medición de la concentración de sodio mediante instrumentación química clínica estándar.[55,56,57] En la reacción enzimática de Abaxis, la β-galactosidasa es activada por el sodio presente en la muestra. La enzima activada cataliza la reacción de o-nitrofenilo-β-D-galactopiranosida (ONPG) a o-nitrofenol y galactosa.

$$\text{ONPG} \xrightarrow[\beta\text{-Galactosidasa}]{\text{Na}^+} \text{o-Nitrofenol} + \text{Galactosa}$$

Bilirrubina total (TBIL)
Típicamente, los niveles de bilirrubina total se han medido con pruebas que emplean ácido sulfanílico diazotado[58,59]. Se ha desarrollado un método más nuevo y más específico usando la enzima bilirrubina oxidasa[60,61,62]. Además de usar el método más específico para la prueba de bilirrubina total, en los analizadores Piccolo se minimiza la fotodegradación del analito porque se puede realizar la prueba inmediatamente después de obtener la muestra.

En el procedimiento enzimático, la bilirrubina se oxida por la bilirrubina oxidasa en biliverdina.

$$\text{Bilirrubina} + \text{O}_2 \xrightarrow{\text{Bilirrubina oxidasa}} \text{Biliverdina} + \text{H}_2\text{O}$$

La bilirrubina se cuantifica como la diferencia de absorbancia entre 467 nm y 550 nm. La absorbancia inicial de esta reacción de punto final se determina a partir del blanco en cubeta y la absorbancia final se obtiene de la cubeta de prueba de bilirrubina. La cantidad de bilirrubina en la muestra es proporcional a la diferencia entre la medición inicial y final de la absorbancia.

Nitrógeno ureico sanguíneo (BUN)
La urea puede ser medida tanto directa como indirectamente. La reación de diacetil monoxima, el único método directo para medir la urea, se utiliza con frecuencia, pero emplea reactivos peligrosos.[63] Los métodos indirectos miden amoníaco creado a partir de la urea; el uso de la enzima ureasa aumentó la especificidad de estas pruebas.[64] El amoníaco es cuantificado por una variedad de métodos, incluida la nesslerización (valoración ácida), la técnica de Berthelot.[65,66] y reacciones enzimáticas acopladas.[67,68] Sin embargo, los procedimientos de Berthelot catalizados son erráticos cuando se mide el amoníaco.[69] Las reacciones de enzimas acopladas son rápidas, tienen una elevada especificidad por el amoníaco y son usadas con frecuencia. Una de estas reacciones fue propuesta como un posible método de referencia.[70]

En la reacción de acoplamiento de enzimas, la ureasa hidroliza la urea en amoníaco y dióxido de carbono. Al combinarse el amoníaco con α-cetoglutarato y nicotinamida adenina dinucleótido reducida (NADH), la enzima glutamato deshidrogenasa (GLDH) oxida la NADH en NAD+.

$$\text{Urea} + H_2O \xrightarrow{\text{Ureasa}} 2NH_3 + CO_2$$

$$NH_3 + \alpha\text{-Oxoglutarato} + \text{NADH} \xrightarrow{\text{GLDH}} \text{L-Glutamato} + H_2O + NAD^+$$

El índice de cambio de la diferencia de absorbancia entre 340 nm y 405 nm se debe a la conversión de NADH en NAD^+ y es directamente proporcional a la cantidad de urea en la muestra.

4. Principios de la operación

Consulte el Manual del usuario del analizador químico Xpress de Piccolo para obtener información sobre los principios y limitaciones del procedimiento.

5. Descripción de los reactivos

Reactivos
Cada PiccoloAmLyte 13 contiene soportes sólidos reactivos específicos para pruebas secas (descritos a continuación). Se incluye un reactivo de referencia de muestra seco (compuesto de amortiguador, surfactantes, excipientes y estabilizantes) en cada disco para usar en el cálculo de las concentraciones de alanina aminotransferasa (ALT), albúmina (ALB), amilasa (AMY), aspartato aminotransferasa (AST), calcio (CA), proteína c reactiva (CRP), creatina quinasa (CK), glucosa (GLU), potasio (K+), sodio (NA+) y nitrógeno ureico sanguíneao (BUN). En el disco se incluye una muestra de referencia dedicada para calcular la concentración de creatinina (CRE) y bilirrubina total (TBIL). Cada disco contiene un diluyente que consta de surfactantes y estabilizantes.

Tabla 1: Reactivos

Componente	Cantidad/Disco
2, 4, 6-Tribomo-3-ácido hidroxibenzoico (TBHBA)	188 µg
2-cloro-4-nitrofenil-α-D-maltotriosida (CNPG3)	52,5 µg
4,7,13,16,21-Pentaoxa-1,10-diazabiciclo[8.8.5]trisocosano (Kryptofix 221)	84 µg
4-Aminoantipirina clorhidrato	13 µg
Adenosina-5'-difosfato	38 µg
Adenosina-5'-monofosfato	33 µg
Adenosina-5'-trifosfato	11 µg
Amilasa	0,0357 U
Látex recubierto de CRP antihumano (ratón)	268,8 µg
CRP antihumano (cabra)	0,5 µg
Ascorbato oxidasa (*Cucurbita ssp*.)	0,3 U
Acetato de calcio	25,2 µg
Ácido cítrico, sal trisódica	567 µg

Tabla 1: Reactivos (continuación)

Componente	Cantidad/Disco
Creatina amidinohidrolasa (*Actinobacillus spp*.)	3 U
Creatina fosfato	122 µg
Creatinina amidohidrolasa (*Pseudomonas spp*.)	1 U
Etilenglicol-bis (β-aminoetil éter)-N,N,N',N'-ácido tetra-acético (EGTA)	4 µg
Ácido etilendiaminotetraacético (EDTA)	191,1 µg
Glucosa	58 µg
Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH) (levadura)	0,1 U
Glutamato deshidrogenasa	0,1 U
Glutamina sintetasa	0,2 U
Hexoquinasa (levadura)	0,2 U
Imidazol	26 µg
Lactato deshidrogenasa (corazón de pollo)	0,3 U
Acetato de magnesio	60 µg
Sulfato de magnesio	29 µg
Malato deshidrogenasa (corazón porcino)	0,1 U
N-Acetil cisteína	60 µg
o-Nitrofenil-ß-D galactopiranosida (ONPG)	22 µg
P1, P5di (adenosina-5') pentafosfato	0,2 µg
Peroxidasa (rábano)	1 U
Fosfoenolpiruvato	23 µg
Fosfoenolpiruvato carboxilasa	0,001 U
Ferrocianuro de potasio	0,4 µg
Piruvato quinasa	0,01 U
Sarcosina oxidasa (microorganismos)	1 U
Colato de sodio	58 µg
Laurilsulfato sódico	145 µg
BSA con bloqueo de sulfhidrilos	420 µg
ß-Nicotinamida adenina dinucleótido, (NAD)	20 µg
ß-Nicotinamida adenina dinucleótido, reducida (NADH)	28 µg
ß-Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP)	101 µg
Ureasa (haba blanca)	0,05 U
Ácido α-cetoglutárico	19 µg
ß-Galactosidasa	0,005 U
Amortiguadores, surfactantes, excipientes y conservantes	

Advertencias y precauciones

- Para uso diagnóstico *in vitro*.

- El envase del diluyente del disco reactivo se abre automáticamente cuando se cierra el cajón del analizador. No puede reutilizarse un disco con un envase de diluyente abierto. Asegúrese de que la muestra o la prueba esté colocada en el disco antes de cerrar el cajón.

- Los discos de reactivo usados contienen líquidos del cuerpo humano. Siga las buenas prácticas de seguridad en el laboratorio cuando manipule y deseche los discos usados.[39] Consulte el Manual del usuario del analizador químico Xpress de Piccolo para obtener instrucciones sobre la limpieza de derrames que presentan riesgo biológico.

- Los discos reactivos son de plástico y pueden romperse o estallar si se caen. **Nunca** use un disco que se haya caído, ya que puede esparcir material biológico peligroso en el interior del analizador.

- El reactivo en soporte sólido puede contener sustancias ácidas o cáusticas. El usuario no entra en contacto con el reactivo en soporte sólido si sigue los procedimientos recomendados. En el caso de que se manipule el reactivo en soporte sólido

(por ejemplo, limpieza tras caerse y romperse un disco de reactivo) se debe evitar la ingestión, el contacto con la piel y la inhalación del mismo.

Instrucciones para la manipulación de los reactivos
Los discos de reactivo pueden usarse inmediatamente después de retirarse del refrigerador, sin calentarlos previamente. No permita que los discos sellados en sus bolsas de aluminio permanezcan a temperatura ambiente más de 48 horas antes del uso. Abra la bolsa de aluminio sellada, retire el disco y use de acuerdo con las instrucciones del Manual del usuario del analizador químico Xpress de Piccolo. Deseche los discos no usados transcurridos 20 minutos de la apertura de la bolsa.

Almacenamiento
Almacene los discos de reactivo en sus bolsas selladas a 2-8 °C (36-46 °F). No exponga los discos abiertos o sin abrir a la luz solar directa o a temperaturas superiores a los 32 °C (90 °F). Los discos de reactivo pueden ser usados hasta la fecha de caducidad indicada en el paquete. La fecha de caducidad también aparece codificada en el código de barras impreso en el anillo del código de barras. Si los reactivos han caducado, aparecerá un mensaje de error en la pantalla del analizador químico Xpress de Piccolo.

Indicaciones de inestabilidad/deterioro del disco reactivo.
Una bolsa rasgada o rota puede permitir que la humedad llegue al disco sin usar y afecte de manera negativa la eficacia del reactivo. No use discos de bolsas dañadas.

6. Instrumento

Consulte el Manual del usuario del analizador químico Xpress de Piccolo para recibir información completa sobre el uso del analizador.

7. Obtención y preparación de las muestras

En la sección "Obtención de muestras" del manual del operador del analizador químico Xpress de Piccolo se describen las técnicas para la obtención de las muestras.

- El tamaño mínimo de muestra requerido es ~100 µl de sangre entera tratada con heparina-litio, plasma tratado con heparina-litio, suero o material de control. La cámara de muestra del disco reactivo puede contener hasta 120 µL de muestra.

- Las muestras de sangre entera obtenidas por venopunción deben ser homogeneizadas antes de transferir una muestra al disco reactivo. Invierta suavemente el tubo de recolección varias veces antes de transferir la muestra. No agite el tubo para obtención de muestras; esto puede causar hemólisis.

- Las muestras de sangre entera deben obtenerse por venopunción, no de la sangre capilar.

- La hemólisis puede provocar resultados erróneamente elevados en las pruebas de **potasio**. Este problema puede pasar desapercibido cuando se analiza sangre entera (la liberación de potasio de apenas 0,5 % de los eritrocitos puede provocar aumentos en el nivel sérico del potasio de 0,5 mmol/l). Además, incluso las muestras no hemolizadas que no se procesan con prontitud pueden tener mayores niveles de potasio debido a la filtración de potasio intracelular.[71]

- Las muestras de sangre entera obtenidas por venopunción se deben analizar dentro de los 60 minutos posteriores a la extracción.[72] Las concentraciones de **glucosa** se ven afectadas por el tiempo transcurrido desde que el paciente ingirió alimentos y el tipo de muestra obtenida de él. Para determinar los resultados de glucosa con precisión, deben obtenerse muestras de un paciente que haya ayunado por lo menos, durante 12 horas. Las concentraciones de glucosa disminuyen aproximadamente 5-12 mg/dl por hora en muestras no centrifugadas almacenadas a temperatura ambiente.[73]

- La refrigeración de muestras de sangre entera puede provocar cambios significativos en las concentraciones de **aspartato aminotransferasa, creatinina** y **glucosa**[74]. La muestra puede separarse en plasma y suero, así como almacenarse en tubos de ensayo con tapa a 2-8 °C (36-46 °F) si no se analiza en un plazo de 60 minutos.

- Para las muestras de sangre o plasma use sólo tubos de recolección de muestras tratados con heparina litio (tapón verde). Para las muestras de suero use tubos para obtención de muestras sin aditivo (tapón rojo) o tubos separadores de suero (tapón rojo o rojo/negro).

- **Los resultados de la bilirrubina total** pueden sufrir efectos adversos de la fotodegradación[75]. Las muestras de sangre entera que no se usan inmediatamente deben guardarse en la oscuridad durante no más de 60 minutos. Si no se puede

analizar la muestra dentro de ese período, debe separarse en plasma o suero y guardarse en una probeta tapada en la oscuridad a bajas temperaturas[76].

- Comience la prueba en los 10 minutos siguientes a la transferencia de la muestra al disco reactivo.

8. Procedimiento

Materiales suministrados
- Un Piccolo AmLyte 13 PN: 400-1041 (una caja de discos PN 400-0041)

Materiales necesarios pero no suministrados
- Analizador químico Xpress de Piccolo
- Con cada analizador químico Xpress de Piccolo se suministran pipetas de transferencia de muestras (volumen fijo de aproximadamente 100 µl) y puntas, y pueden solicitarse repuestos a Abaxis.
- Reactivos de control disponibles comercialmente recomendados por Abaxis (póngase en contacto con el Servicio Técnico de Abaxis para solicitar materiales de control homologados y valores de referencia).
- Cronómetro

Parámetros de prueba
El analizador químico Xpress de Piccolo opera a temperaturas ambientes entre 15 °C y 32 °C (59-90 °F). El tiempo de análisis para cada Piccolo AmLyte 13 es inferior a 14 minutos. El analizador mantiene el disco reactivo a una temperatura de 37 °C (98,6 °F) durante el intervalo de medición.

Procedimiento de prueba
La recolección completa de la muestra y los procedimientos paso por paso se detallan en el Manual del usuario del analizador químico Xpress de Piccolo.

Calibración
El analizador químico Xpress de Piccolo es calibrado por el fabricante antes de ser enviado. El código de barras impreso en el anillo del código de barras proporciona al analizador los datos de calibración específicos del disco. Ver el Manual del operador del analizador químico Xpress de Piccolo.

Control de calidad
Consulte el Manual del usuario del analizador químico Xpress de Piccolo para obtener información más detallada sobre la realización, registro, interpretación y extrapolación de los resultados de control.

9. Resultados

El analizador químico Xpress de Piccolo calcula automáticamente e imprime las concentraciones de analitos en la muestra. Los detalles de los cálculos del criterio de valoración y velocidad de la reacción se encuentran en el Manual del usuario del analizador químico Xpress de Piccolo.

En el Manual del usuario se detalla también la interpretación de los resultados, los cuales se imprimen en cintas de resultados en rollo disponibles en Abaxis. La parte posterior de las cintas de resultados en rollos es adhesiva para facilitar su colocación en los archivos del paciente.

10. Limitaciones del procedimiento

Las limitaciones generales del procedimiento se detallan en el Manual del usuario del analizador químico Xpress de Piccolo.

- El único anticoagulante **recomendado para uso** con el sistema químico Xpress de Piccolo es **heparina-litio**. Abaxis realizó estudios demostrando que el EDTA, fluoruro, oxalato y cualquier anticoagulante que contenga iones de amoníaco interferirá con por lo menos un reactivo contenido en el Piccolo AmLyte 13.

- Las muestras con hematocritos que superan el 62-65% del volumen concentrado de eritrocitos (una fracción de volumen de 0,62-0,65) pueden dar resultados falsos. Las muestras con un hematocrito elevado pueden ser analizadas como hemolizadas. Estas muestras pueden ser centrifugadas para obtener plasma y luego realizar la prueba con un nuevo disco reactivo.

- La CRP es una proteína de "fase aguda" y se eleva de forma no específica en respuesta a la inflamación. La variación intraindividual de la proteína c reactiva es significativa (30 a 60%) y debe tomarse en cuenta al interpretar valores.[77] Puede

ser necesario realizar mediciones en serie para estimar la media real de la proteína c reactiva en cualquier individuo concreto.

- Los anticuerpos HAMA (anticuerpos antirratón humanos) hasta 115 ng/mL no causan interferencia. Las muestras de pacientes que han recibido preparados de anticuerpos monoclonales de ratón para diagnóstico o terapia pueden contener HAMA.

- El factor reumatoide hasta una concentración de 644 U/mL no causa interferencia.

- En este ensayo no se observó un efecto prozona (hook effect) a concentraciones de CRP de hasta 1.000 mg/L.

- **Todo resultado para una prueba particular que supere los valores del análisis deberá analizarse por otro método de prueba homologada o ser enviado a un laboratorio de referencia. No diluya la muestra ni vuelva a analizarla en el analizador químico Xpress de Piccolo.**

  Advertencia: Pruebas exhaustivas del sistema químico Xpress de Piccolo han demostrado que, en casos muy raros, la muestra aplicada al disco reactivo podría no fluir con facilidad a la cámara de la muestra. Debido al flujo irregular, puede analizarse una cantidad inadecuada de muestra y los resultados obtenidos pueden quedar fuera de los valores de referencia. La muestra puede volverse a analizar con un nuevo disco reactivo.

Interferencia
Se probaron sustancias como factores de interferencia con los analitos. Se prepararon mezclas de suero humano. La concentración a la cual se probó cada obstáculo potencial se basó en los niveles de prueba en CLSI EP7-A.[78]

Efectos de las sustancias endógenas
- Los factores de interferencia fisiológicos (hemólisis, ictericia y lipidemia) provocan cambios en las concentraciones analizadas de algunos analitos. Los índices de la muestra son impresos en la base de cada tarjeta de resultados para informar al usuario sobre los niveles de factores de interferencia presentes en cada muestra.

- El sistema químico Xpress de Piccolo suprime cualquier resultado que sea afectado por más del 10% de interferencia por hemólisis, lipidemia o ictericia. En lugar del resultado, la cinta en rollo tendrá impreso “HEM”, “LIP” o “ICT”, respectivamente.

- Para el método CRP, los niveles de sustancias endógenas que disparan las supresiones de HEM, LIP o ICT son de 750 mg/dL para hemoglobina, 750 mg/dL para lipidemia y 35 mg/dL para bilirrubina.

- La prueba de potasio en el sistema Piccolo es una prueba de acoplamiento de piruvato quinasa (PK) / lactatodeshidrogenasa (LDH). Por consigueinte, en casos de trauma muscular extremo o niveles muy elevados de creatina quinasa (CK), el sistema Piccolo puede recuperar un valor de potasio (K+) falsamente elevado. En tales casos, será necesario confirmar los resultados de potasio inesperadamente elevados utilizando otra metodología.

- Póngase en contacto con el Servicio Técnico de Abaxis para obtener información acerca de los niveles máximos de sustancias endógenas.

Efectos de las sustancias exógenas y terapéuticas

Se seleccionaron treinta y cinco sustancias exógenas y terapéuticas como interferentes potenciales para los métodos de prueba de Abaxis sobre la base de las recomendaciones de Young.[79] Se define a la interferencia significativa como un desvío superior al ± 10% en el resultado para una muestra en límites normales. Las mezclas de suero humano fueron enriquecidas con concentraciones conocidas de los fármacos o químicos, y luego analizadas. Consulte la Tabla 2 para ver una lista de las sustancias exógena y terapéuticas evaluadas. **Consulte la TABLA 3 para ver una lista de los analitos donde se observó interferencia.**

Tabla 2: Sustancias exógenas y terapéuticas evaluadas

Interferente potencial	Concentración máxima probada (mg/dL a menos que se indique lo contrario)
Paracetamol	100
Acetoacetato	102
Ácido acetilsalicílico	50
Ampicilina	30
Ácido ascórbico	3
Cafeína	10
Cefalotina (Keflin)	400
Cloranfenicol	100
Cimetidina	16
Dopamina	13
Epinefrina	1
Eritromicina	10
Glutationa	30
Hidroclorotiazida	7,5
Ibuprofeno	50
Isoniacida	4
Cetoprofen	50
L-dopa	5
Lidocaína	1
Lactato de litio	84
Meticilina	100
Metotrexato	0,5
Metronidazol	5
Nafcilina	1
Nitrofurantoína	20
Oxacilina	1
Oxaloacetato	132
Penicilina G	100
Fenitoína (5,5-Difenilhidantoína)	3
Prolina	4
Rifampina	0,5
Ácido salicílico	50
Sulfadiazina	150
Sulfanilamida	50
Teofilina	20

Tabla 3: Las siguientes sustancias mostraron un desvío superior al ± 10% en el resultado para una muestra en límites normales.

	Concentración que produce una interferencia superior al 10%	% de interferencia[A] observado
Alanina aminotransferasa (ALT)		
Ácido ascórbico	20	11% aum.*
Oxaloacetato	132	843% aum.
Albúmina (ALB)		
Acetoacetato	102	18% * dism.
Ampicilina	30	12% dism.
Cafeína	10	14% dism.
Cloruro de calcio	20	17% dism.
Cefalotina (Keflin)	400	13% aum.
Ibuprofeno	50	28% aum.

Tabla 3: Las siguientes sustancias mostraron un desvío superior al ± 10% en el resultado para una muestra en límites normales. (continuación)

	Concentración que produce una interferencia superior al 10%	% de interferencia[A] observado
-Cetoglutarato	5	11% dism.
Nitrofurantoína	20	13% dism.
Prolina	4	12% aum.
Sulfalazina	10	14% dism.
Sulfanilamida	50	12% dism.
Teofilina	20	11% dism.
Proteína C reactiva		
Glutationa	30	13% dism.
Isoniacida	4	16% dism.
L-dopa	5	28% dism.
Oxaloacetato	132	57% dism.
Creatina quinasa		
Cefalotina	400	43% dism.
Dopamina	15	46% dism.
L-dopa	5	13% dism.
Metotrexato	0,5	16 % dism.
Nitrofurantoína	20	18 % dism.
Creatinina		
Ácido ascórbico	20	11% dism.
Dopamina	19	80% dism.
L-dopa	5	71% dism.
Epinefrina	1	45% dism.
Glutationa	30	13% dism.
Glucosa		
Oxaloacetato	132	11% dism.
Piruvato	44	13% dism.
Potasio		
Penicilina G	100	17% aum.
Sulfadiazina	150	12% dism.
Sodio		
Cefalotina	400	12% aum.
Metotrexato	0,5	11% aum.
Penicilina G	100	10% aum.
Alanina aminotransferasa (ALT)		
Ácido ascórbico	20	11% aum.*
Oxaloacetato	132	843% aum.
Bilirrubina total (TBIL)		
Dopamina	19	55% dism.
L-dopa	5	17% dism.

[A] Dism.= disminución en la concentración del analito especificado; Aum. = aumento en la concentración del analito especificado

11. Valores esperados

Se usaron muestras de un total de 193 adultos varones y mujeres, analizadas en el analizador químico sanguíneo de Piccolo para determinar los intervalos de referencia para ALT, albúmina, amilasa, calcio, creatinina, glucosa, bilirrubina total y BUN. Se usaron muestras de un total de 186 adultos varones y mujeres para determinar el intervalo de referencia de la AST. Las muestras de 125 a 150 varones y mujeres adultos se analizaron en el analizador químico sanguíneo de Piccolo y las muestras de 69 varones y mujeres adultos en el analizador químico Xpress de Piccolo para CRP para determinar los intervalos de referencia. Los rangos de electrolitos fueron calculados sobre la base del 95% del intervalo de referencia de los valores combinados (totales) obtenidos de los sujetos de referencia y el rango de la CRP se basó en la transferabilidad demostrada de los intervalos de referencia para el Beckman.[80] Estos intervalos son proporcionados solamente como guía. Se recomienda que su consultorio o institución establezca los rangos normales para su población de pacientes en particular.

Tabla 4: Intervalos de referencia de Piccolo

Analito	Unidades comunes	Unidades SI
Alanina aminotransferasa (ALT)	10-47 U/l	10-47 U/l
Albúmina (ALB)	3,3-5,5 g/dL	33-55 g/L
Amilasa (AMY)	14-97 U/L	14-97 U/L
Aspartato aminotransferasa (AST)	11-38 U/L	11-38 U/L
Calcio (CA)	8,0-10,3 mg/dL	2,00-2,58 mmol/L
Proteína C reactiva	< 7,5 mg/l	< 7,5 mg/l
Creatina quinasa (mujer)	30 -190 U/l	30 -190 U/l
Creatina quinasa (varón)	39 -380 U/l	39 -380 U/l
Creatinina	0,6-1,2 mg/dl	53-106 µmol/l
Glucosa	73-118 mg/dl	4,1-6,6 mmol/l
Potasio	3,6-5,1 mmol/l	3,6-5,1 mmol/l
Sodio	128-145 mmol/l	128-145 mmol/l
Bilirrubina total (TBIL)	0,2-1,6 mg/dL	3,4-27,4 µmol/L
Nitrógeno ureico sanguíneo (BUN)	7-22 mg/dl	2,5-7,9 mmol/l

12. Características de eficacia

Linealidad
La química para cada analito es lineal a lo largo del intervalo dinámico enumerado a continuación cuando el analizador químico Xpress de Piccolo se opera de acuerdo con el procedimiento recomendado (consulte el manual del usuario del analizador químico Xpress de Piccolo).

Tabla 5: Límites dinámicos de Piccolo

Analito	Unidades comunes	Unidades SI
Alanina aminotransferasa (ALT)	5-2000 U/l	5-2000 U/l
Albúmina (ALB)	1-6.5 g/dL	10-65 g/L
Amilasa (AMY)	5-4000 U/L	5-4000 U/L
Aspartato aminotransferasa (AST)	5-2000 U/l	5-2000 U/l
Calcio	4.0-16.0 mg/dL	1.0-4.0 mmol/L
Proteína C reactiva	5,0-200,0 mg/l	5,0-200,0 mg/l
Creatina quinasa	5 -5.000 U/l	5 -5.000 U/l
Creatinina	0,2-20 mg/dl	18-1768 µmol/l
Glucosa	10-700 mg/dl	0,6-38,9 mmol/l
Potasio	1,5-8,5 mmol/l	1,5-8,5 mmol/l
Sodio	110-170 mmol/l	110-170 mmol/l
Bilirrubina total (TBIL)	0,1-30 mg/dL	1,7-513 µmol/L
Nitrógeno ureico sanguíneo (BUN)	2-180 mg/dl	0,7-64,3 mmol/l

Si la concentración del analito es superior al intervalo de medición (intervalo dinámico), pero inferior al intervalo del sistema, en la cinta de datos en rollo impresa se indicarán un signo ">" en el límite superior y un asterisco detrás del número, por ejemplo, GLU >700* U/l. Si es inferior al intervalo dinámico, se imprimirá "<" con un asterisco, por ejemplo, GLU <10* U/l.

Para valores que tengan un valor enormemente más alto que el intervalo de medición (intervalo del sistema), se imprimirá "~~~" en lugar del resultado. Cada vez que aparezca "~~~" en la cinta de datos en rollo, recoja una muestra nueva y realice de nuevo la prueba. Si los resultados de la segunda muestra se vuelven a suprimir, póngase en contacto con el Servicio Técnico de Abaxis.

Sensibilidad (límites de detección)
El límite inferior del intervalo informable (dinámico) para cada analito es: alanina aminotransferasa 5 U/l; albúmina 1 g/dL (10 g/L); amilasa 5 U/L; aspartato aminotransferasa 5 U/l; calcio 4,0 mg/dL (1,0 mmol/L); proteína-c reactiva 5,0 mg/L; creatina quinasa 5 U/l, creatinina 0,2 mg/dl (18 µmol/l); glucosa 10 mg/dl (0,6 mmol/l); potasio 1,5 mmol/l; sodio 110 mmol/l; bilirrubina total 0,1 mg/dL (1,7 µmol/L); y nitrógeno ureico sanguíneo 2,0 mg/dl (0,7 mmol/l).

Precisión
Se condujeron estudios de precisión de acuerdo con las recomendaciones[81] CLSI EP5-A g con modificaciones sobre la base de CLSI EP18-A[82] para dispositivos usados en unidad. Los resultados para la precisión intraserial y total se determinaron mediante dos niveles de materiales de referencia disponibles comercialmente. Los estudios utilizaron múltiples instrumentos. Se utilizaron dos lotes de discos reactivos para los electrolitos y uno para la proteína c reactiva. Las pruebas de creatina quinasa, creatinina, glucosa, sodio y nitrógeno ureico fueron realizadas en un centro; las de potasio se realizaron en dos centros a lo largo de 20 días; la prueba de proteína c reactiva (suero 1, control 1 y control 2) se realizaron en dos centros a lo largo de cinco días. Los sueros 2 y 3 y los plasmas 1 y 2 de proteína C reactiva se analizaron en un solo centro durante un período de cinco días.

Los resultados de los estudios de precisión se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6: Precisión

Analito	Tamaño de la muestra	Intraserial	Total
Alanina aminotransferasa (U/l)	N = 80		
Nivel de referencia 1			
Media		21	21
DE		2,76	2,79
% VR		13,4	13,5
Nivel de referencia 2			
Media		52	52
DE		2,70	3,25
% VR		5,2	6,2
Albúmina (g/dL)	N = 80		
Nivel de referencia 1			
Media		5,6	5,6
DE		0,09	0,11
% VR		1,7	2,1
Nivel de referencia 2			
Media		3,7	3,7
DE		0,07	0,11
% VR		2,0	2,9
Amilasa (U/L)	N = 80		
Nivel de referencia 1			
Media		46	46
DE		2,40	2,63
% VR		5,2	5,7
Nivel de referencia 2			
Media		300	300
DE		11,15	11,50
% VR		3,7	3,8
Aspartato aminotransferasa (U/l)	N = 80		
Nivel de referencia 1			
Media		47	47
DE		0,98	1,84
% VR		2,1	3,9

Analito	Tamaño de la muestra	Intraserial	Total
Nivel de referencia 2			
Media		145	145
DE		1.83	4.62
% VR		1.3	3.2
Calcio (mg/dL)	N = 80		
Nivel de referencia 1			
Media		8,6	8,6
DE		0,21	0,25
% VR		2,4	2,9
Nivel de referencia 1			
Media		11,8	11,8
DE		0,39	0,40
% VR		3,3	3,4
Proteína C reactiva (mg/l)			
Suero 1	N = 80		
Media		8,3	8,3
DE		0,70	0,81
% VR		8,4	9,8
Suero 2	N = 40		
Media		8,1	8,1
DE		0,49	0,51
% VR		6,1	6,3
Suero 3	N = 40		
Media		8,8	8,8
DE		0,54	0,54
% VR		6,2	6,2
Proteína C reactiva (mg/l)			
Plasma 1	N = 40		
Media		34,5	34,5
DE		1,04	1,09
% VR		3,0	3,2
Plasma 2	N = 40		
Media		105,5	105,5
DE		2,06	2,30
% VR		1,9	2,2
Control 1	N = 80		
Media		33,0	33,0
DE		1,21	2,12
% VR		3,7	6,4
Control 2	N = 80		
Media		108,0	108,0
DE		1,88	3,14
% VR		1,7	2,9
Creatina quinasa (U/l)	N = 120		
Control 1			
Media		134	134
DE		2,7	2,7
% VR		2,0	2,0
Control 2			
Media		526	526
DE		7,7	7,7
% VR		1,5	1,5
Creatinina (mg/dL)	N=80		
Control 1			
Media		1,1	1,1
DE		0,14	0,14
% VR		12,5	13,1

Analito	Tamaño de la muestra	Intraserial	Total
Control 2			
Media		5,2	5,2
DE		0,23	0,27
% VR		4,4	5,2
Glucosa (mg/dl)	N=80		
Control 1			
Media		66	66
DE		0,76	1,03
% VR		1,1	1,6
Control 2			
Media		278	278
DE		2,47	3,84
% VR		0,9	1,4
Potasio (mmol/l)	N = 120		
Control 1			
Media		6,12	6,12
DE		0,32	0,32
% VR		5,2	5,7
Control 2			
Media		4,10	4,10
DE		0,24	0,26
% VR		5,9	6,3
Sodio (mmol/l)	N = 80		
Control 1			
Media		143,5	143,5
DE		2,28	2,28
% VR		1,6	1,6
Control 2			
Media		120,0	120,0
DE		2,13	2,13
% VR		1,8	1,8
Bilirrubina total (mg/dL)	N = 80		
Nivel de referencia 1			
Media		0,8	0,8
DE		0,06	0,07
% VR		8,0	9,3
Nivel de referencia 2			
Media		5,2	5,2
DE		0,09	0,15
% VR		1,7	2,8
Nitrógeno ureico sanguíneo (mg/dl)	N = 80		
Control 1			
Media		19	19
DE		0,35	0,40
% VR		1,9	2,1
Control 2			
Media		65	65
DE		1,06	1,18
% VR		1,6	1,8

Correlación

Se obtuvieron y analizaron muestras de sangre entera y suero anticoagulados con heparina-litio en el analizador químico sanguíneo Piccolo y con métodos de comparación para cloro, creatina quinasa, creatinina, glucosa, potasio, sodio, dióxido de carbono total y nitrógeno ureico. Las muestras de sangre entera se analizaron con el analizador químico sanguíneo Piccolo en los centros de campo, y las muestras séricas se analizaron con el analizador químico sanguíneo Piccolo y mediante métodos de comparación. En algunos casos, se usaron muestras muy y poco enriquecidas para cubrir el rango dinámico. Para CRP, se

analizaron muestras de plasma tratado con heparina-litio en el analizador químico Xpress de Piccolo y con un método de comparación. Las muestras se han elegido para que cumplan los valores de distribución en la guía CLSI EP9-A2.[83]

En la tabla 7 se muestran las estadísticas de correlación representativas.

Tabla 7: Correlación del analizador químico sanguíneo de Piccolo o el analizador químico Xpress de Piccolo (para CRP) con métodos de comparación

	Coeficiente de correlación	Pendiente	Intercepción	VER	N	Rango de muestra	Método de comparación
Alanina aminotransferasa (U/l)	0,981	0,905	1,3	3,21	86	10-174	Paramax®
	0,985	0,946	-2,5	2,84	67	10-174	Technicon
Albúmina (g/dL)	0,854	1,001	-0,3	0,22	261	1,1-5,3	Paramax
	0,896	0,877	-0,1	0,21	100	1,5-5,0	Beckman
Amilasa (U/L)	0,979	0,692	-4,7	3,11	99	11-92	Paramax
	0,963	1,065	-4,1	3,47	80	19-118	Technicon
Aspartato aminotransferasa (U/l)	0,93	0,87	5,3	2,76	159	13-111	Paramax
	1,0	0,97	3,0	1,9	46	13-252	DAX™
Calcio (mg/dL)	0,991*	0,990	-0,4	0,17	25	5,2-11,9	Paramax
	0,673	0,742	1,8	0,22	81	8,1-9,9	Beckman
Proteína C reactiva (mg/l)	0,998	0,990	-0,4	4,6	113	5,4-198,6	Beckman
Creatina quinasa (U/l)	0,967	1,194	-25	9,05	47	6-813	Cobas Fara®
Creatinina (mg/dl)	0,993	0,926	0,0	0,15	260	0,4-14,7	Paramax
	0,987	0,866	0,1	0,16	107	0,4-7,5	Beckman
Glucosa (mg/dl)	0,987	1,009	-2,8	3,89	251	72-422	Paramax
	0,997	0,943	1,2	4,69	91	56-646	Beckman
Potasio (mmol/l)	0,969	0,863	0,6	0,14	58	2,0-6,8	Radiómetro KNA 2
Sodio (mmol/l)	0,937	0,782	27,7	3,79	113	116-154	Radiómetro KNA 2
Bilirrubina total (mg/dL)	0,974	0,901	0,0	0,07	250	0,2-3,7	Paramax
	0,980	1,113	-0,4	0,09	91	0,1-6,4	Beckman
Nitrógeno ureico sanguíneo (mg/dl)	0,964	0,923	0,5	1,08	251	6-52	Paramax
	0,983	0,946	0,0	0,66	92	6-38	Beckman

Tabla 8: Correlación de tipos de muestras para CRP
Para el método de prueba CRP, el análisis de regresión de Deming para el tipo de muestra dio los resultados siguientes con n = 21.

Eje Y	Eje X	R^2	Pendiente	Intercepción
Plasma tratado con heparina-litio	Sangre entera tratada con heparina-litio	1,000	0,995	0,2
Suero	Sangre entera tratada con heparina-litio	0,999	1,005	0,5
Suero	Plasma tratado con heparina-litio	0,999	1,010	0,3

Para CRP no se observaron diferencias significativas entre la sangre entera tratada con heparina-litio, el plasma tratado con heparina-litio y el suero.

13. Símbolos

Usar antes del

Número de catálogo

Código de lote

Dispositivo diagnóstico in vitro

Consultar las instrucciones de uso

Fabricante

No volver a usar

X número de dispositivos de prueba en el equipo

Secuencia de fabricación

En serie

Representante autorizado en la Comunidad Europea

Limitación de temperaturas

PN:
Número de parte

Precaución

14. Bibliografía

1. Tonhazy NE, NG White, WW Umbreit. A rapid method for the estimation of the glutamic-aspartic transaminase in tissues and its application to radiation sickness. Arch Biochem 1950; 28: 36-42.
2. Reitman S, Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. Am J Clin Pathol 1957; 28: 56-63.
3. Murray RL. Alanine aminotransferase. In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. Kaplan LA,Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 895-898.
4. Wróblewski F, LaDue JS. Serum glutamic-pyruvic transminase in cardiac and hepatic disease. Proc Soc Exp Biol Med 1956; 91: 569-571.
5. Bergmeyer HU, Horder M. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase. J Clin Chem Clin Biochem 1980; 18: 521-534.
6. Howe PE. The use of sodium sulfate as the globulin precipitant in the determination of proteins in blood. J Biol Chem 1921; 49: 93-107.
7. Howe PE. The determination of proteins in blood — a micro method. J Biol Chem 1921; 49: 109-113.
8. Wolfson WQ, et al. A rapid procedure for the estimation of total protein, true albumin, total globulin, alpha globulin, beta globulin and gamma globulin in 10 ml of serum. Am J Clin Pathol 1948; 18: 723-730.
9. Saifer A, Gerstenfeld S, Vacsler F. Photometric microdetermination of total serum globulins by means of a tryptophan reaction. Clin Chem 1961; 7: 626-636.
10. Saifer A, Marven T. The photometric microdetermination of serum total globulins with a tryptophan reaction: a modified procedure. Clin Chem 1966; 12: 414-417.
11. Gendler SM, Albumin. In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1029-1033.
12. Webster D, Bignell AHC, EC Attwood. An assessment of the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. Clin Chim Acta 1974; 53: 101-108.
13. Louderback A, Mealey EH, NA Taylor. A new dye-binding technic using bromcresol purple for determination of albumin in serum. Clin Chem 1968; 14: 793-794. (Abstract)
14. Pinnell AE, Northam BE. New automated dye-binding method for serum albumin determination with bromcresol purple. Clin Chem 1978; 24: 80-86.
15. McNeely MDD. Amylase. In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 906-909.
16. Zinterhofer L, et al. Nephelometric determination of pancreatic enzymes. I. Amylase. Clin Chim Acta 1973; 43: 5-12.
17. Centers for Disease Control (CDC). Alpha-amylase methodology survey I. Atlanta: US Public Health Service; Nov, 1975.
18. Somogyi M. Modifications of two methods for the assay of amylase. Clin Chem 1960; 6: 23-35.
19. Gillard BK, Markman HC, Feig SA. Direct spectro-photometric determination of □-amylase activity in saliva, with p-nitrophenyl □-maltoside as substrate. Clin Chem 1977; 23: 2279-2282.
20. Wallenfels K,et al. The enzymic synthesis, by transglucosylation of a homologous series of glycosidically substituted malto-oligosaccharides, and their use as amylase substrates. Carbohydrate Res 1978; 61: 359-368.
21. Karmen A. A note on the spectrophotometric assay of glutamic-oxalacetic transaminase in human blood serum. J Clin Invest 1955; 34: 131-133.
22. Bergmeyer, HU, et al. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. Clin Chem 1977; 23: 887-899.
23. Bergmeyer HU, Hørder M, Moss DW. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. Revised IFCC method for aspartate aminotransferase. Clin Chem 1978; 24: 720-721.
24. Kramer B, Tisdall FF. A simple technique for the determination of calcium and magnesium in small amounts of serum. J Biol Chem 1921; 47: 475-481.
25. Clark EP, Collips JB. A study of the Tisdall method for the determination of blood serum calcium with suggested modification. J Biol Chem 1925; 63: 461-464.
26. Katzman E, Jacobi M. The determination of serum calcium by titration with ceric sulfate. J Biol Chem 1937; 118: 539-544.
27. Cali JP, et al. A reference method for the determination of total calcium in serum. In: GR Cooper, ed., Selected Methods of Clinical Chemistry, vol 8. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry. 1997: 3-8.
28. Kessler G, M Wolfman. An automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. Clin Chem 1964; 10: 686-703.
29. Michaylova V, Ilkova P. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. Anal Chim Acta 1971; 53: 194-198.
30. Scarpa A, et al. Metallochromic indicators of ionized calcium. Ann NY Acad Sci 1978; 307: 86-112.

14. Bibliografía (continuación)

31. Macy E, Hayes T, Tracy R. Variability in the measurement of c-reactive protein in healthy subjects: implications for reference interval and epidemiological applications. Clin. Chem. 1997; 43: 52-58.
32. Rifai N, Tracy RP, Ridker PM. Clinical efficacy of an automated high-sensitivity C-reactive protein assay. Clin Chem 1999; 45: 2136-2141.
33. Roberts WL, Moulton L, Law TC, Farrow G, Cooper-Anderson M, Savory J, Rifai N. Evaluation of nine automated high-sensitivity C-reactive protein methods: implications for clinical and epidemiological applications. Part 2. Clin Chem. 2001; 47: 418–425.
34. Kuby SA, Noda, L and Lardy HA. Adenosinetriphosphate-creatine transphosphorylase. J. Biol Chem. 1954; 209: 191-201.
35. Tanzer Ml And Gilvarg C. Creatine and creatine kinase measurement. J Biol Chem. 1959; 234: 3201-3204.
36. Nuttall FQ And Wedin DS. A simple rapid colorimetric method for determination of creatine kinase activity. J Lab Clin Med. 1966; 68: 324-332.
37. Oliver IT. A spectrophotometric method for the determination of creatine phosphokinase and myokinase. Biochem J. 1955; 61: 116-122.
38. Rosalki SB. An improved procedure or serum creatine phosphokinase determination. J Lab Clin Med. 1967; 69: 696-705.
39. Szasz G, Gruber W and Bernt E. Creatine kinase in serum: I. Determination of optimum reaction conditions. Clin Chem. 1976; 22: 650-656.
40. Expert Panel On Enzymes, Committee Of Standards (IFCC). 1979 Approval Recommendations Of IFCC Methods For The Measurement Of Catalytic Concentrations Of Enzymes, Part 1. General Considerations. Clin Chim Acta. IFCC Sections: 98: 163-174.
41. Committee On Enzymes Of The Scandinavian Society For Clinical Chemistry And Clinical Physiology. 1976. Recommended Method For The Determination Of Creatine Kinase In Blood. Scand J. Clin Lab Invest. 36: 711-723.
42. Knoll VE, et al. Spezifische kreatininbetimmung im serum. Z Klin Chem Klin Biochem. 1970; 8: 582-587.
43. Haeckel R, et al. Simplified determinations of the "true" creatinine concentration in serum and urine. J Clin Chem Clin Biochem. 1980; 18: 385-394.
44. Moss GA, et al. Kinetic enzymatic method for determining serum creatinine. Clin Chem. 1975; 21: 1422-1426.
45. Jaynes PK, et al. An enzymatic, reaction-rate assay for serum creatinine with a centrifugal analyzer. Clin Chem. 1982; 28: 114-117.
46. Fossati P, et al. Enzymatic creatinine assay: a new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement. Clin Chem. 1983; 29: 1494-1496.
47. Whelton A, et al. Nitrogen metabolites and renal function. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd Ed. Burtis CA, and Ashwood ER, Eds. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1994; 1513-1575.
48. Folin O, et al. A system of blood analysis. J Biol Chem. 1919; 38: 81-110.
49. Somogyi M. A reagent for the copper-iodometric determination of very small amounts of sugar. J Biol Chem. 1937; 117: 771-776.
50. Nelson N, et al. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. J Biol. 1944; 153: 375-380.
51. Kaplan LA. Glucose. In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. Kaplan LA, AJ Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989; 850-856.
52. Berry MN, et al. Enzymatic determination of potassium in serum. Clin Chem. 1989; 35: 817-820.
53. Van Pelt J. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in serum compared with determination by flame photometry, coulometry and ion selective electrodes. Clin Chem. 1994; 40: 846-847.
54. Hubl W, et al. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in abnormal (hemolyzed, icteric, lipemic, paraprteinemic, or uremic) serum samples compared with indirect determination with ion selective electrodes. Clin Chem. 1994; 40: 1528-1531.
55. Helgerson RC, et al. Host-guest Complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. J Amer Chem Soc. 1989; 111: 6339-6350.
56. Kumar A, et al. Chromogenic ionophere-based methods for spectrophotometric assay of sodium and potassium in serum and plasma. Clin Chem. 1988; 34: 1709-1712.
57. Berry MN, et al. Enzymatic determination of sodium in serum. Clin Chem. 1988; 34: 2295-2298.
58. Malloy HT, Evelyn KA. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. J Biol Chem 1937; 119: 481-490.
59. Meites S. Bilirubin, direct reacting and total, modified Malloy-Evelyn method. In: Selected Methods of Clinical Chemistry, vol. 9. Faulkner WR, Meites S, eds. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry. 1982: 119-124.58.

14. Bibliografía (continuación)

60. Murao S Tanaka N. A new enzyme "bilirubin oxidase" produced by Myrothecium verrucaria MT-1. Agric Biol Chem 1981; 45: 2383-2384.
61. Osaki S, Anderson S. Enzymatic determination of bilirubin. Clin Chem 1984; 30: 971. (Abstract
62. Perry B, et al. of total bilirubin by use of bilirubin oxidase. Clin Chem 1986; 32: 329-332.
63. Fales FW. Urea in serum, direct diacetyl monoxime method. In: Selected Methods of Clinical Chemistry, vol 9. Faulkner WR, Meites S, eds. Washington, DC.: American Association for Clinical Chemistry. 1982; 365-373.
64. Van Slyke, et al. A permanent preparation of urease, and its use in the determination of urea. J Biol Chem. 1914; 19: 211-228.
65. Fawcett JK, et al. A rapid and Precise method for the determination of urea. J Clin Pathol. 1960; 13: 156-159.
66. Chaney, et al. Urea and ammonia determinations. Clin Chem. 1962; 8: 130-132.
67. Talke H, et al. Enzymatische Harnstoffbestimmung in Blut and Serum im optischen Test nach Warburg. Klin Wochensch. 1965; 43: 174-175.
68. Hallett, et al. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide-coupled reaction for emergency blood urea estimation. Clin Chim Acta. 1971; 35: 33-37.
69. Patton, et al. Spectrophotometric and kinetics investigation of the Berthelot reaction for the determination of ammonia. Anal Chem. 1977; 49: 464-469.
70. Sampson EJ, et al. A coupled-enzyme equilibrium method for the measuring urea in serum: optimization and evaluation of the AACC study group on Urea Candidate reference method. Clin Chem. 1980; 26: 816-826.
71. Scott, M.G. Electrolytes and Blood Gases. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999; 1058-1059.
72. Clinical and Laboratory Standards Institute. Procedures for the handling and processing of blood specimens; tentative standard. CLSI Document H18-A2. Wayne, PA: CLSI, 1999.
73. Overfield CV, et al. Glycolysis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. Clin Chim Acta. 1972; 39: 35-40.
74. Rehak NN, Chiang BT. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. Clin Chem. 1988; 34-2111-4.
75. Sherwin JE, Obernolte R. Bilirubin. In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1009-1015.
76. Henry RJ, Cannon DC, Winkelman JW. Clinical Chemistry: Principles and Technics, 2nd ed. New York: Harper and Row. 1974: 417-421; 1058-1059.
77. Macy E, Hayes T, Tracy R. Variability in the measurement of c-reactive protein in healthy subjects: implications for reference interval and epidemiological applications. Clin. Chem. 1997; 43: 52-58.
78. Clinical and Laboratory Standards Institute. Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. CLSI Document EP7-A. Wayne, PA: CLSI, 2002.
79. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3rd ed. Washington, DC: AACC Press, 1990.
80. Clinical and Laboratory Standards Institute. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory, approved guidelines, 2nd ed. CLSI Document C28-A3. Wayne, PA: CLSI, 2008.
81. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline. CLSI Document EP5-A. Wayne, PA: CLSI, 1999.
82. Clinical and Laboratory Standards Institute. Quality management for unit-use testing; proposed guideline. CLSI Document EP18-A. Wayne, PA: CLSI, 2002.
83. Clinical and Laboratory Standards Institute. Method comparison and bias estimation using patient samples; approved guideline. CLSI Document EP9-A2. Wayne, PA: CLSI, 2002.

©2014, Abaxis Inc. Todos los derechos reservados. Piccolo y Piccolo Xpress son marcas registradas de Abaxis Inc. Las demás marcas comerciales y marcas de servicio son propiedad de sus respectivos titulares.